

Variación estacional de la condición nutricional larvaria del boquerón (*Engraulis encrasicolus*) en el estuario del Guadalquivir

Seasonal variation of anchovy (Engraulis encrasicolus) larval nutritional condition in the Guadalquivir estuary

L. Yebra (1), M. V. Funes (2), E. González-Ortegón (3), F. Baldó (3), M. P. Jiménez (3), P. Cañavate (2) & C. Vilas (2)

(1) Instituto Español de Oceanografía. Centro Oceanográfico de Málaga. Puerto Pesquero s/n, 29640 Fuengirola, Málaga, Spain. lidia.yebra@ma.ieo.es

(2) Centro IFAPA El Toruño, Ctra. N. IV Km. 654a. Camino de Tiro Pico, 11500 El Puerto de Santa María, Cádiz, Spain.

(3) Instituto Español de Oceanografía, Centro Oceanográfico de Cádiz, Puerto Pesquero, Muelle de Levante s/n, Cádiz 11006, Spain.

Abstract: European anchovy recruitment to the Guadalquivir estuary mainly occurs when the environmental conditions show more stability. Unusual changes in the environmental conditions of this estuary negatively impacted on key preys of anchovy and therefore on its nursery function. In this way, nutritional condition should determine strongly the physiological state of this species in estuaries and thus its survival and recruitment. RNA:DNA ratio has been applied with success as indicator of nutritional condition and growth in marine organisms. We study RNA:DNA ratio in anchovies of the coupled system Guadalquivir estuary-coastal influenced area in the Gulf of Cádiz in order to evaluate the condition seasonal variability of this species along this spatial gradient. Spatial differences in the size distribution of anchovy and high values of RNA:DNA in the Guadalquivir estuary compared to its influence coastal area suggest that anchovies migrate to the estuary and they acquire a very good condition. We conclude that RNA:DNA is a useful tool to understand the ecological mechanisms by which the coupled system Guadalquivir estuary-coastal influenced area in the Gulf of Cádiz control the success or failure of the recruitment of this important fishery resource in the region.

Key words: Guadalquivir estuary, *Engraulis encrasicolus*, nutritional condition, larval ecology, RNA:DNA

1. INTRODUCCIÓN

Numerosas especies marinas de peces y crustáceos decápodos en la zona costera del Golfo de Cádiz migran en sus fases jóvenes hacia zonas someras y altamente productivas en busca de alimento. En concreto, larvas y juveniles de boquerón *Engraulis encrasicolus* L. 1758 entran en el estuario del Guadalquivir entre primavera y otoño, donde se alimentarían y crecerían, antes de retornar al hábitat de la población adulta. Tanto las oscilaciones naturales de sus presas en el medio como las debidas a la actividad humana (incluyendo el manejo del río) que afecten a estos procesos de reclutamiento del boquerón tendrían un efecto sobre la población adulta, y por consiguiente, sobre una de las pesquerías más importantes para la flota de cerco del Golfo de Cádiz.

Por ejemplo, en el Mar del Norte la alteración de las abundancias de los copépodos cogenéricos *Calanus finmarchicus* y *C. helgolandicus* tiene un efecto determinante en el reclutamiento de bacalao debido a su diferente contenido lipídico (Beaugrand *et al.*,

2003). Investigaciones recientes apuntan a que una serie de tendencias negativas en la densidad de las poblaciones de varias especies de peces planctívoros están causadas por el fallo de reclutamiento en las zonas norte y central del Mar del Norte, donde a su vez se han observado grandes cambios en las características del agua y en la comunidad de zooplankton durante la última década (Payne *et al.*, 2009). En el Mar Báltico, Möllmann *et al.*, (2009) y Casini *et al.*, (2009) muestran cómo un cambio reciente en las condiciones de temperatura y salinidad provoca una alternancia de dominancia entre las dos especies de copépodos más importantes en la zona, *Pseudocalanus* y *Acartia*, con importantes consecuencias que se propagan hacia los niveles más altos de la red trófica.

En este sentido el estado fisiológico de los organismos marinos que usan los estuarios como zona de cría se encuentra principalmente determinado por la temperatura, salinidad y el estrés alimentario. Sin embargo, la determinación *in situ* del estado fisiológico de organismos y comunidades marinas es de gran dificultad. Por ello se hace

necesario desarrollar métodos indirectos que permitan el conocimiento de la fisiología, las interacciones tróficas y los cambios en la composición y estructura de los ecosistemas acuáticos. Uno de los índices más ampliamente usados en ecología marina es el índice RNA:DNA. Desde que se propuso hace 38 años como indicador bioquímico del estado nutricional y fisiológico de los organismos acuáticos en ambientes naturales (Holm-Hansen *et al.*, 1968) se ha explorado continuamente (Bulow, 1981; Chícharo *et al.*, 1998; Berdalet *et al.*, 2005). Estos índices se han aplicado con éxito invertebrados y peces (Buckley, 1984; Wagner *et al.*, 1998; Chícharo *et al.*, 2001; García *et al.*, 2003; García *et al.*, 2006; Yebra *et al.*, 2011).

El índice RNA:DNA presenta diversas aplicaciones en la conservación marina y los estudios de reclutamiento (Chícharo *et al.*, 2008). Así, puede utilizarse para la determinación de la supervivencia potencial de un organismo capturado en el medio. Se ha reconocido ampliamente que la elevada mortalidad que ocurre durante la fase larvaria puede ser debida directamente al ayuno o a pobres condiciones de alimentación, que reducen la tasa de crecimiento larvario e incrementan la duración de la exposición a depredadores potenciales (Pepin 1989; Pepin *et al.*, 1999).

Nuestra hipótesis de partida es que el boquerón utiliza el estuario del Guadalquivir y su zona de influencia costera estratégicamente y sincronizada con oscilaciones de la abundancia y migraciones horizontales estacionales de especies presa claves de zooplancton y suprabentos.

2. MATERIAL Y MÉTODOS

Las larvas y juveniles analizados proceden de tres campañas oceanográficas llevadas a cabo tanto en el estuario del Guadalquivir como en la zona costera de influencia, en los meses de junio, agosto y noviembre de 2013 (Figura 1). En el estuario, larvas y juveniles de boquerón fueron capturados con un arte de pesca denominado de “persiana”, con una luz de malla de 1 mm (para más detalles ver González-Ortegón *et al.*, 2014). El material recolectado fue conservado inmediatamente en nitrógeno líquido para su posterior análisis en el laboratorio. La captura de larvas en la zona costera se realizó mediante una red Bongo de 90 cm de diámetro equipada con malla de 1 mm. Se realizaron arrastres superficiales durante 10-15 minutos, a una velocidad de 2.5 nudos, aproximadamente. Estas muestras fueron triadas inmediatamente a bordo con el fin de fijarlas lo más rápido posible y procurando que sufran el menor daño durante su manipulación. Los ejemplares de boquerón se agruparon por su tamaño en cuatro

categorías (talla 1: <20 mm; talla 2: 20-30 mm; Talla 3: 30-40 mm; talla 4: > 40 mm).

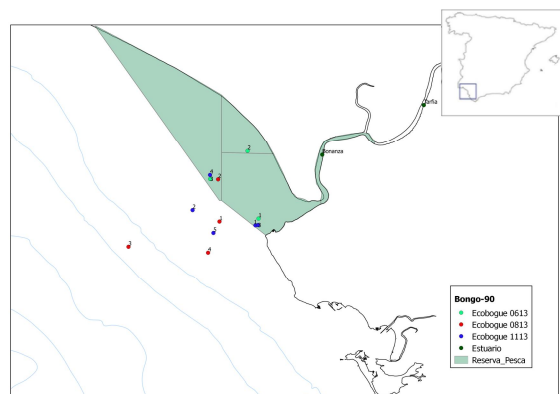


Fig. 1. Mapa del Estuario del Guadalquivir y zona costera cercana a la desembocadura en el que se muestran las estaciones de muestreo de larvas de boquerón.

2.1. Condición nutricional en larvas de boquerón: estimación del índice RNA:DNA.

Para estimar el índice RNA:DNA se utilizó la metodología descrita en Berdalet *et al.* (2005), que utiliza N-laurilsarcosina para homogeneizar el tejido (previamente conservado mediante congelación en nitrógeno líquido) y SYBR Green II para detectar los ácidos nucleicos mediante fluorimetría. Se establecieron curvas de calibración usando estándar de ADN (timo de ternera) y ARN (levadura) para extrapolar la concentración de ADN y ARN de cada muestra.

3. RESULTADOS y DISCUSIÓN

El rango de tallas principal de los individuos de boquerón capturados en el estuario del Guadalquivir fue de 10-50 mm mientras que el de los individuos capturados en el Golfo de Cádiz fue de entre 5 y 33 mm (Figura 2). Este desfase en el rango de tallas sugiere una migración de las larvas de esta especie marina hacia el interior del estuario del Guadalquivir. Aunque no se pueden establecer diferencias espaciales entre ambos ecosistemas interconectados en la condición nutricional de larvas mayores a 20 mm por estas diferencias en los rangos de tallas, los ejemplares de menores de 20 mm fueron usados para este propósito. En el mes de junio, coincidiendo con la época de mayor productividad (Prieto *et al.*, 2009), las larvas de boquerón de talla menor a 20 mm presentaron valores RNA:DNA similares dentro del estuario y en aguas costeras del Golfo de Cádiz.

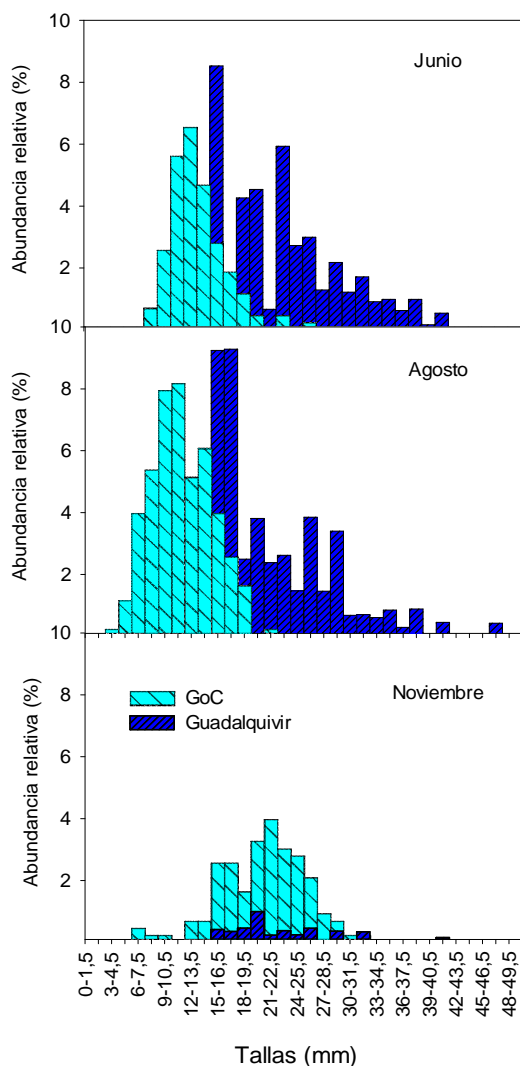


Fig. 2. Histogramas de frecuencia relativa de tallas de juveniles de boquerón en el estuario del Guadalquivir y su zona costera de influencia (GoC) en los meses de junio, agosto y noviembre de 2013.

Sin embargo las diferencias en agosto fueron significativas entre ambas zonas, con valores reducidos de RNA:DNA en las aguas externas al estuario. Estos valores bajos de RNA:DNA en aguas del Golfo se mantuvieron en otoño (Figura 3). Las diferencias temporales encontradas indican que a principios de verano la productividad tanto dentro como fuera del estuario fue alta, lo que permitió a las larvas de boquerón alimentarse adecuadamente y por tanto incrementar su ratio RNA:DNA. Por el contrario, a finales de verano (agosto) la disponibilidad de alimento en las aguas costera del Golfo de Cádiz cercanas al estuario, a diferencia de su interior, no fue suficiente para mantener los valores elevados de RNA:DNA y éste índice disminuyó notablemente de valores cercanos a 8 a valores en torno a 2. Esto apoya la teoría de que el estuario es una zona de cría y crecimiento para las larvas de boquerón. Las larvas entrarían en el estuario con una

talla mínima en torno a 10 mm y permanecerían en él superando la talla de 40 mm.

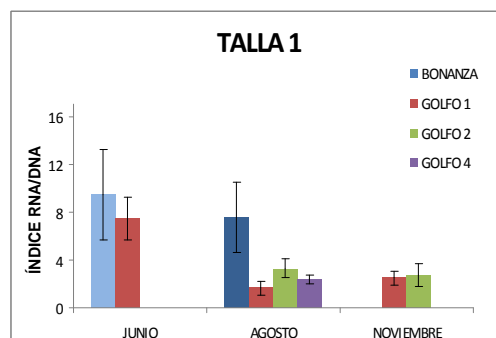


Fig. 3. Diferencias geográficas del índice RNA:DNA en larvas de boquerón de talla 1 (<2 cm).

Una vez alcanzado el tamaño de juveniles regresarían al Golfo para continuar su crecimiento hasta adultos y cerrar el ciclo biológico. La variabilidad estacional observada entre el estuario y las aguas del Golfo también se refleja, aunque en menor medida, en larvas mayores a 2 cm encontradas en el interior del Guadalquivir (estación Bonanza) (Figura 4).

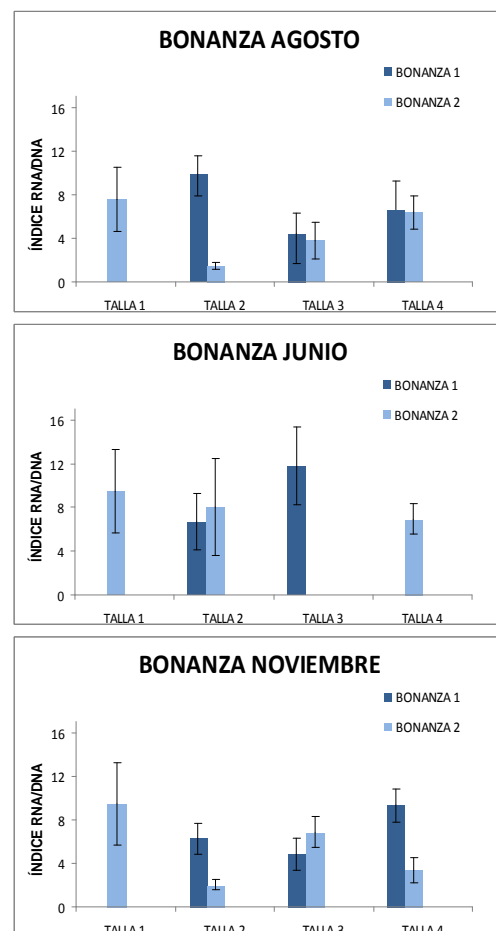


Fig. 4. Variación estacional del índice RNA:DNA de larvas de boquerón dentro del estuario para cada rango de talla. BONANZA 1 y 2 hace referencia a la marea: 1 creciente; 2 vaciante.

Agradecimientos

Este estudio ha sido desarrollado en el marco del Proyecto de Excelencia ECOBOGUE-RNM-7467 “Ecología de los estadios tempranos del ciclo de vida del boquerón *Engraulis encrasicolus*: papel del ecosistema acoplado -estuario del Guadalquivir y su zona de influencia costera- en el proceso de reclutamiento de la especie” financiado por el Programa de Incentivos a Proyectos de Investigación de Excelencia (Convocatoria 2011) de la Consejería de Economía, Innovación, Ciencia y Empleo de la Junta de Andalucía. Agradecer especialmente la colaboración de los equipos de las campañas STOCA, INGRES, ECOCADIZ y ARSA del IEO y al proyecto JUVERIO en convenio con DG Pesca de la CAPDR-Junta de Andalucía por facilitar el buen desarrollo de las campañas de este proyecto.

REFERENCIAS

- Beaugrand, G., Brander, K.M., Lindley, J.A. *et al.* (2003). Plankton effect on cod recruitment in the North Sea. *Nature*, 426, 661-664.
- Berdalet, E., Roldán, C. & Olivar P. (2005). Quantifying RNA and DNA in planktonic organisms with SYBR Green II and nucleases. Part B. Quantification in natural samples. *Scientia Marina*, 69, 17-30.
- Buckley, L.J. (1984). RNA-DNA ratio: an index of larval fish growth in the sea. *Marine Biology*, 80, 291-298.
- Bulow, J.F. (1970) RNA-DNA ratios as indicators of recent growth rates of fish. *J Fish Res Bd. Canada*, 27, 2343-2349.
- Casini, M., Hjelm, J., Molinero, J.C. & Lövgren J. (2009). Trophic cascades promote threshold-like shifts in pelagic marine ecosystems. *Proc Natl Acad Sci USA*, 106, 197-202.
- Chícharo, M.A., Chícharo, L.M., Galvão, H. *et al.* (2001). Status of the Guadiana estuary (South Portugal) during 1996-1998: an ecohydrological approach. *Aquatic Ecosystem Health & Management*, 4, 73-89.
- Chícharo, A., Chícharo, L., Valdés, L. *et al.* (1998). Estimation of starvation and diet variation of the RNA/DNA ratios in field-caught *Sardina pilchardus* larvae off the north of Spain. *Marine Ecology Progress Series* 164, 273-283.
- Chícharo, M.A. & Chícharo, L. (2008). RNA: DNA ratio and other nucleic acid derived indices in marine ecology. *International Journal of Molecular Sciences*, 9, 1453-1471.
- García-Lafuente, J., Delgado, J., Criado-Aldeanueva, F. *et al.* (2006). Water masses circulation in the continental shelf of the Gulf of Cadiz. *Deep Sea Research II*, 53, 1182-1197.
- García, A., Cortés, D., Ramírez, T. *et al.* (2003). Contribution of larval growth rate variability to the recruitment of the Bay of Malaga anchovy (SW Mediterranean) during the 2000- 2001 spawning seasons. *Scientia Marina*, 67, 477-490.
- González-Ortegón, E., Baldó, F., Arias, A. *et al.* (2015). Freshwater scarcity effects on the aquatic macrofauna of a European Mediterranean-climate estuary. *Science of The Total Environment*, 503, 213-221.
- Holm-Hansen, O., Sutcliffe, W.H. & Jonathan, S.J. (1968). Measurement of deoxyribonucleic acid in the ocean and its ecological significance. *Limnology and Oceanography*, 13, 507-514.
- Möllmann, C., Diekmann, R., Müller-Karulis, B. *et al.* (2009). Reorganization of a large marine ecosystem due to atmospheric and anthropogenic pressure: a discontinuous regime shift in the Central Baltic Sea. *Global Change Biology*, 15, 1377-1393.
- Payne, M.R., Hatfield, E.M.C., Dickey-Collas, M. *et al.* (2009). Recruitment in a changing environment: the 2000s North Sea herring recruitment failure. *ICES Journal of Marine Science*, 66, 272-277.
- Pepin, P. (1989). Predation and starvation of larval fish: a numerical experiment of size-and growth-dependent survival. *Biological Oceanography*, 6, 23-44.
- Pepin, P., Evans, G.T. & Shears, T.H. (1999). Patterns of RNA/DNA ratios in larval fish and their relationship to survival in the field. *ICES Journal of Marine Science: Journal du Conseil*, 56, 697-706.
- Prieto, L., Navarro, G., Rodríguez-Gálvez, S. *et al.* (2009). Oceanographic and meteorological forcing of the pelagic ecosystem on the Gulf of Cadiz shelf (SW Iberian Peninsula). *Continental Shelf Research*, 29, 2122-2137.
- Wagner, M., Durbin, E. & Buckley, E. (1998). RNA:DNA ratios as indicators of nutritional condition in the copepod (*Calanus finmarchicus*). *Marine Ecology Progress Series*, 162, 173-181.
- Yebra, L., Berdalet, E., Almeda, R. *et al.* (2011). Protein and nucleic acid metabolism as proxies for growth and fitness of *Oithona davisae* (Copepoda, Cyclopoida) early developmental stages. *J Exp Mar Biol Ecol*, 406, 87-94.